

# Općeniti pregled nastanka karcinoma

---

Ivanović, Matej

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:372546>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Matej Ivanović**

7661/BT

**Općeniti pregled nastanka karcinoma**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biologija 2

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Reno Hrašćan

**Zagreb, 2021.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

**Završni rad**

**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija**

**Zavod za biokemijsko inženjerstvo  
Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Biotehnologija**

**Općeniti pregled nastanka karcinoma**

**Matej Ivanović, 0125158422**

**Sažetak:** Karcinomi su jedni od vodećih uzročnika smrti u svijetu. Nastanak je karcinoma kompleksan proces u koji su uključeni brojni molekularni mehanizmi. Uzročnici karcinoma mogu biti kemijski mutageni, onkogeni virusi ili pak UV zračenje. Oni djeluju na DNA, uzrokuju promjene na genima te tako aktiviraju njihov onkogeni potencijal ili inaktiviraju njihovu tumor supresijsku ulogu.

**Ključne riječi:** karcinogeneza, onkogeni, tumor supresorski geni, onkogeni virusi

**Rad sadrži:** 28 stranica, 5 slika, 1 tablicu, 41 literaturni izvor

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici  
Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Reno Hrašćan

**Datum obrane:** 16.09.2021.

**BASIC DOCUMENTATION  
CARD**

**Bachelor thesis**

**University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and  
Biotechnology  
University undergraduate study  
Biotechnology**

**Department of Biochemical Engineering  
Laboratory for Biology and Microbial  
Genetics**

**Scientific area: Biotechnical  
SciencesScientific field:  
Biotechnology**

**Overview of carcinogenesis**

**Matej Ivanović, 0125158422**

**Abstract:** Cancers are one of the leading causes of death in the world. Cancer formation is a complex process involving a number of molecular mechanisms. The causes of cancer can be chemical mutagens, oncogenic viruses or UV radiation. They act on DNA, cause changes in gene thus activating their oncogenic potential or inactivate their tumor suppressive role

**Keywords:** carcinogenesis, oncogenes, tumor suppressor genes, oncogenic viruses

**Thesis contains:** 28 pages, 5 pictures, 1 table, 41 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** dr. sc. Reno Hrašćan, Assoc. Prof.

**Defence date:** 16.09.2021.

## **SADRŽAJ :**

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1.    DEFINICIJA I KARAKTERISTIKE TUMORA.....</b>	<b>2</b>
<b>2.2.    VRSTE TUMORA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.3.    KARCINOGENEZA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.3.1. KEMIJSKA KARCINOGENEZA – KEMIJSKI MUTAGENI.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3.2. BIOLOŠKA KARCINOGENEZA – ONKOGENI VIRUSI.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3.2.1. TUMORSKI RNA VIRUSI .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3.2.2. TUMORSKI DNA VIRUSI.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.3. FOTOKARCINOGENEZA – UV ZRAČENJE.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.    STANIČNI CIKLUS.....</b>	<b>14</b>
<b>2.4.1. TUMOR SUPRESORSKI GENI.....</b>	<b>16</b>
<b>2.4.1.1. TP53.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4.1.2. RB.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.2. ONKOGENI.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4.2.1. MYC.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.2.2. RAS.....</b>	<b>22</b>
<b>3. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>24</b>
<b>4. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>25</b>

# 1. UVOD

Novotvorenine, neoplazme ili tumori tvorbe su nastale kao posljedica prekomjernog umnažanja stanica.

Tumori mogu biti benigni ili maligni. Benigni ili dobroćudni tumori izrasline su koje se ne mogu proširiti te uglavnom nisu smrtonosne, osim ako se ne nalaze na lokaciji gdje se ne mogu odstraniti operacijom, poput nekih tumora mozga.

Maligni ili zloćudni tumori imaju sposobnost metastaziranja, odnosno širenja u druga tkiva i organe. (Cooper, 1992.)

Tumori su jedan od vodećih uzroka smrtnosti u Hrvatskoj i u svijetu. Prema podacima HZJZ-a, u 2019. godini umrlo je 51794 osoba. Većinom su uzrok smrti bile bolesti cirkulacijskog sustava i one su činile 42.57% svih umrlih. Uzrok su smrti 26.94% ljudi bili tumori. Najčešće vrste zloćudnih tumora bili su karcinomi debelog crijeva, rektuma i anusa (4.04%), karcinomi dušnika, dušnica i pluća (5.55%), karcinom prostate (1.56%) te karcinom dojke (1.48%). (Erceg i Miler Knežević, 2020.)

Većina uzročnika tumora uzrokuje promjenu u sekvenci DNA, tako da se tumori smatraju bolešću genoma na staničnom nivou. DNA izolirana iz tumorskih stanica pokazuje razne mutacije, od točkastih mutacija do raznih delecija i translokacija. Nakupljanje je mutacija jedan od čimbenika u procesu karcinogeneze. (Pecorino, 2016.)

Proces karcinogeneze može biti pokrenut izlaganju kemijskim karcinogenima, zračenju te biološkim agensima poput onkogenih virusa.

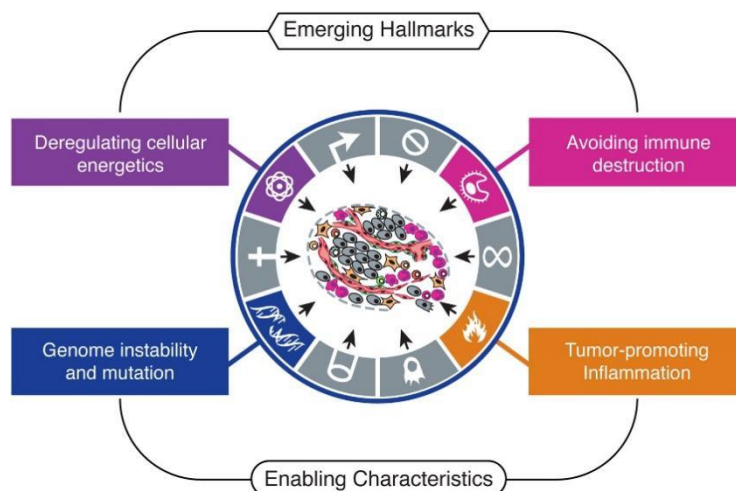
## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. DEFINICIJA I KARAKTERISTIKE TUMORA

Tumori su novoizrasline koje karakterizira pretjerana i nenormalna proliferacija stanica. Oni mogu biti benigni i maligni. Benigni su tumori lokalizirani na jednom mjestu, dok se maligni tumori šire u okolna tkiva i imaju sposobnost metastaziranja na druge organe.

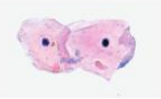


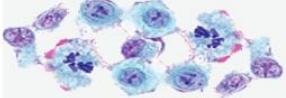
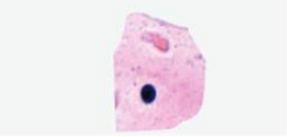
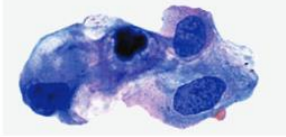
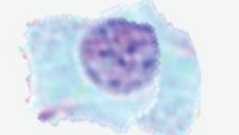

Normalne se stanice pretvaraju u tumorske stanice procesom neoplastične preobrazbe.

Maligni su tumori sastavljeni od stanica koje pokazuju određene atipične karakteristike. Karakteristike su tumorskih stanica: izbjegavanje imunskog sustava, ostvarivanje replikacijske besmrtnosti, širenje, induciranje angiogeneze, izbjegavanje smrti stanice, deregulacija staničnog metabolizma, konstantna proliferacija, izbjegavanje supresora rasta, genomska nestabilnost i mutiranje (Slika 1.).



SLIKA 1. Obilježja i karakteristike tumorskih stanica (Hannah, 2011.)

Karakteristike su malignih tumora smanjena diferencijacija stanica, tendencija širenja u okolna tkiva i mogućnost metastaziranja u druga tkiva. Citološke su karakteristike malignih tumora (Slika 2): povećana jezgra s povećanim N/C (od engl. nuclear/cytoplasmic ratio) omjerom, pleomorfizam, odnosno pojava varijacije u veličini jezgre ili stanice, anaplazija, odnosno gubitak stanične diferencijacije te nepravilni raspored kromatina u jezgri. (Hanahan i Weinberg, 2011.)

Normal cells	Cancerous cells	Description of cancerous cells
		Large and variably shaped nuclei
		Many dividing cells and disorganized arrangements
		Variation in size and shape of nuclei
		Loss of normal feature (shape and morphology)

SLIKA 2. Razlika normalni i tumorskih stanica (Kumar i Srivastava, 2015.)

Maligni se tumori mogu proširiti na više načina. Prvi je način direktna invazija okolnoga tkiva, drugi je način širenje limfnim putevima, a treći je način širenje preko krvotoka.

## 2.2.VRSTE TUMORA

Osim što tumore dijelimo na maligne i benigne, dijelimo ih i prema tkivnom podrijetlu.

Ako je ishodišno tkivo bilo epitelno tkivo tada takve tumore zovemo i karcinomima. Karcinome još dijelimo na karcinome pločastog epitela, karcinome prijelaznog epitela i adenokarcinome. Adenokarcinomi maligni su tumori žljezdanog podrijetla koji nastaju od epitelnih stanica sluznice dišnog i probavnog sustava, epitelnih dijelova dojke te površinskog sloja jajnika. Sarkomi su maligni tumori nastali iz koštanog, vezivnog, masnog ili mišićnog tkiva. Matične su stanice koštane srži ili limfatički organi ishodište limfomima i leukemijama. (Damjanov i sur., 2014)



## 2.3. KARCINOGENEZA

Većina su uzročnika karcinoma ujedno i mutageni. Oni uzrokuju mutacije na molekuli DNA. Mutacije mogu biti točkaste mutacije, odnosno mutacije na razini jedne baze, ali mogu biti i na razini cijelog kromosoma.

Neke su od mogućih mutacija tranzicijske mutacije, u kojima se jedna purinska baza mijenja s drugom purinskom bazom, odnosno pirimidinska s pirimidinskom. Transverzijske su mutacije one mutacije u kojima se purinska baza mijenja s pirimidinskom bazom i obrnuto. Insercija i delecija baze uzrokuju promjenu okvira čitanja. Kromosomska je translokacija izmjena dijela jednog kromosoma s drugim kromosomom. Mutacije uzrokovane mutagenim sredstvima izazvane su mutacije, ali se mutacije događaju i spontano. Nakupljanje je tih mutacija dio procesa karcinogeneze.

Proces je karcinogeneze karakteriziran promjenama na razini stanice, gena i epigenoma te s pojavom nenormalnog dijeljena stanica. (Timasetti, 2017.)

Tumori nastaju postupno, u najmanje tri koraka. Ti se koraci zovu inicijacija, promocija i progresija.

Inicijaciju nije lagano proučavati, zato što je teško izolirati, identificirati i karakterizirati inicirane stanice. Jetra je štakora tretiranog karcinogenim sredstvima jedan od modela u kojima je inicijacija karakterizirana. Inicirane su promjene najčešće vrlo jednostavne mutacije poput tranzicije. Najveći broj iniciranih stanica ostaje mirovati u organizmu, odnosno ne napreduje dalje do koraka promocije. Smatra se da je korak inicijacije relativno česta pojava koja se lako inducira, ali može nastati i spontano. Inicijacija je ireverzibilan proces koji nastaje kao posljedica izlaganja stanica fizikalnim, kemijskim ili biološkim agensima, koji mogu uzrokovati genetska oštećenja ili mutacije, što dovodi do genomske nestabilnosti. Svaka mutacija ne dovodi do inicijacije karcinogeneze.

U koraku se promocije mijenja ekspresija genoma, ali bez daljnjih promjena u strukturi DNA. Karakteristika je promocije način prijenosa signala iz okoline do genoma i izražavanje genoma. Promotivni agensi s receptorskim molekulama stupaju u interakciju sa specifičnim regijama DNA i tako mijenjaju ekspresiju, najčešće nizvodnih

gena ili skupine gena.

U stadiju progresije, maligne se neoplazme manifestiraju, odnosno dolazi do strukturnih nepravilnosti u staničnom kariotipu. Kromosomske promjene postaju sve vidljivije i opsežnije, a kariotip sve nestabilniji. Normalne stanice održavaju stabilnost kariotipa, ali su promijenjene stanice izgubile tu sposobnost pa im se struktura iz diobe u diobu mijenja. Te neprekidne promjene daju tim stanicama sposobnost metastaziranja i brzoga rasta, razvoj otpornosti na lijekove i izbjegavanje imunskog nadzora. (Cooper, 2018.)

### **2.3.1. KEMIJSKA KARCINOGENEZA – KEMIJSKI MUTAGENI**

Supstance koje uzrokuju pojavu karcinoma zovu se karcinogeni. Dolazak u kontakt s karcinogenom ne znači da će doći do razvitka karcinoma. Sve ovisi o vrsti karcinogena, vremenu trajanja izlaganja tom karcinogenu te količini karcinogena.

Svakodnevno smo izloženi raznim kemikalijama, kod kuće, na poslu, koje potencijalno imaju karcinogeni učinak. Neki su od znanih karcinogena benzen, berilij, azbest i arsen. Ne postoji jednostavan kriterij za podjelu kemijskih spojeva na mutagene i nemutagene. Mutageni je spoj, onaj koji ulazi u međudjelovanje s molekulom DNA te tako izaziva promjenu baza DNA ili mijenja strukturu kromosoma.

Većina kemijskih spojeva koji povećavaju rizik od pojave karcinoma iskazuju svoje djelovanje prisutnošću metabolita, koji nastaju pomoću enzimskih sustava te biotransformacijama u organizmu. S jedne strane, spojeve koji tako iskazuju svoj karcinogeni učinak zovemo i prokarcinogenima. S druge strane, postoje spojevi koji imaju aktivne dijelove molekule u svojoj početnoj strukturi te takve karcinogene nazivamo izravnim karcinogenima.

Kemijske mutagene možemo podijeliti na kemijske mutagene, koji su ovisni o metaboličkoj aktivaciji i na mutagene koji su neovisni o metaboličkoj aktivaciji.

U prvu skupinu spojeva pripadaju N-nitrozamini, hidrazini i triazini, karbamati, halogeni ugljikovodici, arilamini i arilamidi, policiklični aromatski ugljikovodici i mikotoksini. (Boranović, 2000.)

Čovjek je izložen N-nitrozaminima u hrani, naročito u suhomesnatim proizvodima,

pušenjem te uporabom kozmetičkih i gumenih proizvoda koji sadrže te spojeve. Metabolička se aktivacija odvija pomoću citokroma P-450 te se nakon nekoliko biokemijskih koraka oslobađa snažan metilirajući mutagen metildiazohidroksid. Mutageno se djelovanje očituje nastajanjem međuveza između molekule DNA i metilirajućih metabolita. (Tricker, 1991.)

Velik broj važnih kemijskih spojeva u poljoprivredi pripada skupini karbamata. Najsnažniju mutagenu aktivnost iskazuje ditiokarbamat, dok je najistraženiji karbamat etilkarbamat. Etilkarbamat jedan je od prvih otkrivenih mutagena, a možemo ga naći u vinu, pivu, duhanu i narančinu soku. On pokazuje snažan odgovor u testovima koji se temelje na aktivaciji *in vivo*, ali u *in vitro* testovima ne pokazuje mutageni učinak. Taj spoj u jetri stvara adukt, 7-(oksoetil)-deoksigvanozin. Adukti su posljedica spajanja kemijskih agensa i molekule DNA kojima se mijenja sekundarna struktura dvolančane molekule DNA. Time se sprječava djelovanje enzima koji vode replikaciju, transkripciju i rekombinaciju DNA. (Schlatter, 1990.)

Halogeni se ugljikovodici najčešće metaboliziraju u jetri, sustavom citokroma P-450. Jedan je od najistraživanijih halogenih ugljikovodika vinilklorid. On nakon metaboličke aktivacije u jetri iskazuje snažno hepatokarcinogeno djelovanje. Taj se spoj koristi u proizvodnji plastičnih proizvoda te tako postoji uz profesionalno izlaganje tom spoju i potencijalna ugroženost opće populacije.

Arilamini i arilamidi spojevi su koji se primjenjuju kao industrijski antioksidansi u procesu proizvodnje plastike, ali se nalaze i u dimu cigareta. Aktiviraju se N-oksidacijom i vežu se na DNA. Glavno je mjesto vezanja C8-položaj deoksigvanozina. Promijenjene baze izazivaju znatnu strukturnu promjenu molekule DNA, mutacije i supstitucije.

Policiklični aromatski ugljikovodici globalni su zagađivači koji potječu od nepotpunog izgaranja. Početna se aktivacija u organizmu zbiva djelovanjem citokroma P-450 te tako nastaju epoksidi koji su snažni mutageni.

Citokrom P-450 naziv je za skupinu enzima koji sadrže hem kao kofaktor i koji sudjeluju u metabolizmu endogenih i egzogenih spojeva. U čovjeku se nalazi na unutarnoj membrani mitohondrija ili na endoplazmatskom retikulumu. Gotovo se 75% metabolizma lijekova odvija preko citokroma P-450. (Gonzalez i Gelboin, 1992.)

### **2.3.2. BIOLOŠKA KARCINOGENEZA – ONKOGENI VIRUSI**

Smatra se da oko 12% svih karcinoma uzrokuju virusi. Nakon infekcije virusom, u stanici se može naći samo mala količina roditeljskog virusa. Ta se faza naziva ekliptična faza. Virusni genom tada, za ekspresiju, koristi ili staničnu mašineriju ili vlastitu mašineriju, ali tada još ne nastaju novi virusi. Zatim slijedi faza zrenja u kojoj dolazi do naglog nagomilavanja virusnog potomstva. Nakon faze zrenja, stanice zaražene litičkim virusima propadaju i liziraju se, te otpuštaju virusne čestice. Ako su stanice zaražene nelitičkim virusima, sposobne su stalno proizvoditi nove virusne čestice, ali bez liziranja i propadanja.

Virusni su geni zapisani ili u RNA genomu ili u DNA genomu. Virusni genom može biti jednolančani ili dvolančani. Virusi imaju ovojnicu koja može biti proteinska ovojnica ili kapsida te membranska ovojnica. Proteinska se ovojnica sastoji od nekoliko vrsta polipeptidnih lanaca, složenih u nekoliko slojeva. Membranska se ovojnica sastoji od proteinskog sloja obloženog dvoslojnim lipoproteinskim nosačem.

Infektivni se ciklus virusa sastoji od faze inicijacije infekcije, faze virusne replikacije, faze zrenja virusa te izlaženja virusa iz stanice.

Virus se prihvaća na staničnu površinu tako da se za stanični receptor veže specifičnim virionskim proteinom koji se zove antireceptor. Receptori su najčešće glikoproteini. Sve stanice nemaju iste receptore, stoga virus ne može inficirati sve vrste stanica. Nakon prihvaćanja na staničnu membranu, virus prodire u stanicu. To se može dogoditi na tri načina: prijenosom virusne čestice kroz staničnu membranu, endocitozom koja rezultira nakupljanjem virusnih čestica u citoplazmatskim vakuolama te fuzijom virusne ovojnice sa staničnom membranom. Zatim, ovisno o vrsti virusnog genoma, dolazi do replikacije virusa

#### **2.3.2.1. TUMORSKI RNA VIRUSI**

Tumorski RNA virusi pripadaju porodici retrovirusa. Ti su virusi dobili ime po tome što se reverzno prepisuju za vrijeme replikacijskog ciklusa. Retrovirusi su povezani s mnogim bolestima koje uključuju i maligne tumore. Primjeri su retrovirusa ljudski virus imunodeficijencije ( HIV-1 i HIV-2) i ljudski virus T-leukemije (HTLV-I i

HTLV-II). Retrovirusi su međusobno slične građe, organizacije genoma i načina replikacije. Na površini se ovojnice retrovirusa nalazi glikoprotein kodiran genom *env*. Taj je glikoprotein virusni antireceptor pomoću kojega se virus veže za stanicu. U nukleokapsidi se osim genomske RNA molekule nalazi proteaza, reverzna transkriptaza i intergraza. Retrovirusni se genom sastoji od dviju molekula jednolančane RNA te gena koji kodiraju za strukturne proteine. Ti geni su *gag*, *pol* i *env*.

*Gag* gen kodira za proteine koji čine virusnu internu nukleokapsidu. Gen *pol* kodira za proteine reverznu transkriptazu i integrazu. Te gene sadrže svi retrovirusi. Neki retrovirusi sadrže i homologe staničnih onkogeni. Retrovirusni genom na oba kraja sadrži nekodirajuće nukleotidne slijedove, LTR ( od engl. long terminal repeats), koji sadrže regulatorne signale za prepisivanje genoma, promotore, pojačivače te signale za završenje procesa prepisivanja. Onkogeni se transformacija retrovirusima bazira na svojstvu retrovirusa da prihvati i prenosi stanični genetski materijal te na aktivaciju ili inaktivaciju staničnih gena integriranim provirusom. Eksperimenti su inducirane neoplastične preobrazbe retrovirusom na staničnoj kulturi doveli do otkrića skupine gena čvrsto povezanih s virusnom karcinogenezom, onkogeni. Retrovirusi induciraju pojavu tumora na više različitih načina. Akutno transformirajući retrovirusi sadrže stanični onkogen u vlastitom genomu i uzrokuju tumore nakon kratkog latentnog razdoblja. Retrovirusi ne moraju nositi stanični onkogen da bi inducirali tumore. Oni mogu inducirati tumore integracijom svog genoma u genomu domaćina. Virusni onkogeni nisu bitni za virusnu replikaciju, ali su bitni za onkogogenu transformaciju. Virusni onkogeni potiču iz staničnog genoma i nisu bitni za staničnu replikaciju. Virus samo služi kao prenositelj onkogeni te nadzire njegovo prepisivanje. Kada su stanični onkogeni došli pod kontrolu virusnog promotora LTR, ekspimirali su se te dobili sposobnost neoplastične transformacije stanica. Stanično podrijetlo retrovirusnih onkogeni znači da određene mutacije mogu aktivirati stanične onkogene te uzrokovati neoplastične transformacije stanica, bez potrebe za retrovirusom. Virusni se onkogeni nazivaju v-onkogenima, dok se stanični onkogeni nazivaju c-onkogenima ili protoonkogenima.

HTLV ili ljudski virus T–stanične leukemije prvi je virus koji se uspio uzročno povezati s malignom neoplazmom u čovjeka. Virus je izoliran iz limfoblastoidne stanične linije T-limfocita bolesnika s kožnim limfomom. Protutijela su na HTLV-1 pronađena u više od 90% osoba oboljelih od staračke T–stanične leukemije. Izolirani se virus, dobiven iz kulture stanice osoba oboljelih od staračke leukemije T-stanica,

može koristiti za transformaciju T-stanica uzgojenih *in vitro*. U malignim se stanicama, osoba sa staračkom leukemijom, može dokazati prisutnost provirusne DNA virusa HTLV-1, dok se u stanicama drugih vrsta leukemija, provirusna DNA ne nalazi, iako ponekad bolesnici imaju i anti-HTLV protutijela. Provirusna DNA nije pronađena u zametnim stanicama, što znači da se virus ne prenosi vertikalno. HTLV-1 pripada skupini onkogenih retrovirusa koji ne sadrži onkogene. Taj virus inducira tumore nakon dugog latentnog razdoblja. HTLV-1 sadrži gen *tax* koji je za nestrukturani protein zvan transaktivator. On može pojačati izražavanje staničnih gena koji u promotoru, odnosno pojačivaču, sadrže vezno mjesto za imunoglobinski laki lanac K (NFkB) i tako daje jak, kontinuirani aktivacijski signal u inficiranim T-limfocitima, koji uzrokuje nekontrolirani rast stanica i konačno, leukemijsku preobrazbu inficiranih stanica. (Boranović, 2000.)

### **2.3.2.2. TUMORSKI DNA VIRUSI**

Tumorski su DNA virusi skupina virusa koji se sastoje od više različitih porodica virusa, a to su papilomavirusi, koji uzrokuju papilome i karcinome, poliomavirusi, herpesvirusi, koji uzrokuju limfome i karcinome, adenovirusi, hepadnavirusi i poksirusi. Ti se virusi razlikuju u mehanizmu uzrokovanja tumora.

Adenovirusi i poliomavirusi očituju se kao tumorski virusi samo u eksperimentalnim sustavima, dok su druge skupine virusa uzročno povezane s pojavom tumora. Onkogeni DNA virusa kodiraju proteine koji mogu djelovati u raznim dijelovima stanica, ali ipak većina onkoproteina virusa djeluje u jezgri. Onkogeni DNA virusa imaju bitne funkcije u životnome ciklusu virusa, za razliku od onkogeni RNA virusa, koji nisu važni za replikaciju virusa. Također, za razliku od onkogeni RNA virusa koji imaju homologe u normalnim staničnim genima, onkogeni DNA virusa ih nemaju. Ipak, postoji određena strukturna i funkcionalna homologija virusnih onkoproteina s proteinima stanice.

U procesu stanične transformacije, važna je interakcija između virusnih i staničnih proteina. Postoji više vrsta interakcija. Jedna se odnosi na aktivaciju protoonkogeni, a druga na inaktivaciju tumor supresorskih gena. Humani papiloma virus (HPV) i Epstein-Barr virus (EBV) primjeri su tumorskih DNA virusa.

Humani papiloma virus, odgovoran je za gotovo 30% karcinoma uzrokovanih

virusima. HPV uzrokuje infekciju epitelnih stanica kože te oralnih i genitalnih sluznica. HPV je mali virus, ikosaedralne simetrije, molekulske mase od  $5 \cdot 10^6$  Da. HPV ima kružnu dvostruku DNA, s otprilike 8000 parova baza povezanih sa staničnim histonima. Viralni je genom podijeljen na tri regije: prva ili rana regija (E), druga ili kasna regija (L) te treća ili nekodirajuća regija (NCR). U ranoj se regiji nalaze geni E1, E2, E4, E5, E6 i E7 koji su odgovorni za replikaciju virusa. U kasnoj se regiji nalaze geni L1 i L2 koji kodiraju proteine kapside. U nekodirajućoj se regiji nalaze regulatorni elementi odgovorni za replikaciju i transkripciju te ishodište replikacije (ori). Svi HPV virusi mogu inducirati benigne lezije, međutim postoje određeni tipovi HPV-a koji su blisko povezani s malignim tumorima. L1 je protein ključan za infekciju, odnosno pomoću se njega virus veže na heparan sulfatne receptore. L2 je protein odgovoran za pakiranje DNA.

E1 protein ima tri domene. Prva je domena N-terminalna domena koja se veže na protein Cdk2 (Cyclin dependent kinase 2), druga je domena koja se veže na E2 protein i čini E1-E2 kompleks, a treća domena je, C-terminalna domena, ATP-ovisna helikaza. Kada se E1-E2 kompleks veže na ishodište replikacije Ori, E1 protein dovodi topoizomerazu I, DNA polimerazu  $\alpha$  te replikacijski protein A (RPA) koji su potrebni za replikaciju virusa. E1 protein također uzrokuje lomove u DNA te tako pridonosi integraciji virusa.

E2 protein ima N- i C- terminalnu domenu. C-terminalna domena se veže za Brd4 protein. E2-Brd4 se kompleks veže na kromosome u mitozu i tako osigurava distribuciju virusnih kopija u stanice kćeri. E2 također djeluje kao transkripcijski regulator za E6 i E7 proteine. Kada je E2 prisutan u visokim količinama on tada reprimira ekspresiju E6 i E7 proteina. Uz to E2 protein stupa u interakciju s p300/CBP-p/CAF kompleksom koji služi kao transkripcijski koaktivator gena TRP53, koji za tumor kodira supresorski protein p53 te posljedično smanjuje ekspresiju toga gena. E4 protein sudjeluje u oslobađanju virusa iz stanice.

E5 protein stupa u interakciju s proton-ATPazom i tako povisuje endosomalni pH s vrijednosti od 5.9 na vrijednost 6.9. Ta promjena pH sprječava degradaciju epidermalnog faktora rasta (EGF) te povećava reciklaciju EGF receptora na staničnu membranu i tako pridonosi rastu i dijeljenju stanica. Tim se putem promovira ubikvinacija odnosno degradacija proteina Bax. Funkcija je toga proteina aktivacija apoptoze ili stanične smrti. E5 protein također stupa u interakcije s Golgijevim

aparatom (GA) te tako sprječava otpuštanje MHC class I molekula (od engl. major histocompatibility class I (HLA) complex) i pridonosi izbjegavanju imunskog odgovora.

E6 protein HPV-a ima ključnu ulogu u imortalizaciji stanica. On inducira transkripcijsku aktivaciju enzima reverzne transkriptaze telomeraze (hTERT). Također smanjuje koncentraciju tumor supresorskog proteina p53. To čini tako što stupa u kompleks s proteinom p53 i E6AP ubikvitin ligazom što promovira razgradnju proteina p53. Istraživanja su pokazala da se E6 protein može vezati na interferonski regulatorni faktor 3 (IRF-3) i tako smanjiti ekspresiju interferona  $\beta$  (INF- $\beta$ ) što će otežati sposobnost imunskog sustava da prepozna viruse. E6 je ključan protein u promociji karcinogeneze. (Araldia i suradnici, 2018.)

HPV uzrokuje rak vrata maternice, analne karcinome, karcinome penisa, usta i grla. Također je povezan i s pojedinim vrstama karcinoma prostate, pluća i dojke. Moguća je prevencija cijepljenjem protiv visoko rizičnih tipova HPV-a. Trenutno su na tržištu dostupna dvovalentna cjepiva koja pružaju zaštitu protiv visokorizičnih tipova HPV-a (16 i 18) koji uzrokuju više od 70% karcinoma cerviksa. Četverovalentna cjepiva uz visokorizične tipove štite protiv tipa 6 i 11 koji uzrokuju spolne bradavice. Dostupna su i devetovalentna cjepiva koja uz navedene tipove štite i od HPV-a tipa 31, 33, 45, 52 i 58 koji također spadaju u onkogene tipove. (www.hzjz.hr)

### **2.3.3. FOTOKARCINOGENEZA – UV ZRAČENJE**

Kožni su tumori jedni od najučestalijih ljudskih tumora. Dijele se na melanome i na NMSCs (od engl. Nonmelanoma skin cancers). NMSCs uključuju BCC i SCC karcinome (od engl. Basal and squamous cell carcinomas). NMSCs oblici kožnih tumora uglavnom su benigni za razliku od melanoma. Eksperimentalno se dokazala veza između nastanka kožnih tumora i UV zračenja. Karcinogeneza izazvana UV zračenjem uključuje tri uobičajene faze u nastanku neoplazmi, inicijaciju, promociju i progresiju, ali postoji dugo latentno razdoblje između prvog izlaganja karcinogenu i pojave primarnog tumora. Karcinogenezu uzrokovanu elektromagnetskim zračenjem UV spektra, vidljivog spektra i infracrvenog spektra nazivamo fotokarcinogenezom. Fotokarcinogeneza uključuje aktivaciju onkogenih te inaktivaciju tumor supresorskih gena, a ovisi o količini zračenja, vremenu izlaganja zračenju te valnoj duljini zračenja.



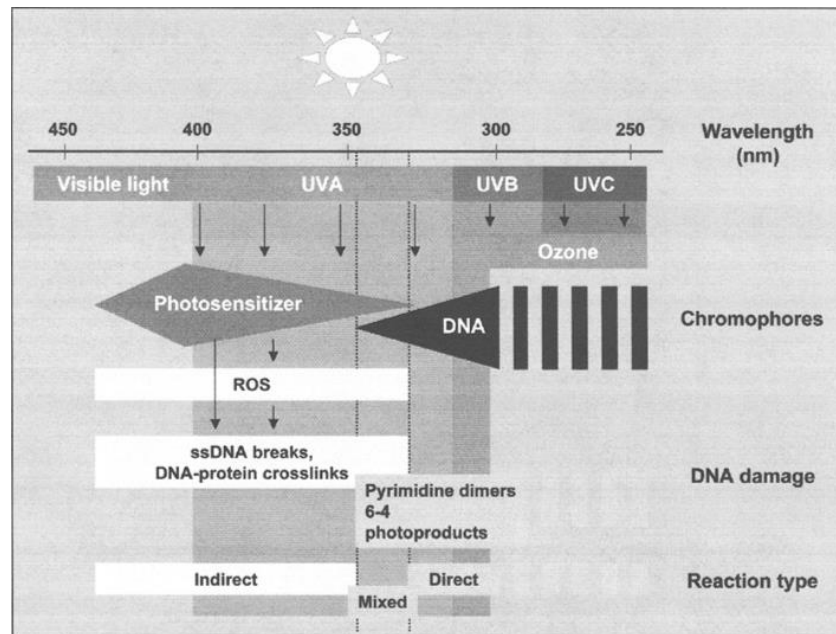
UV je zračenje dio elektromagnetskog spektra, to je nevidljivi dio svjetla. Dijeli se na tri tipa zračenja, ovisno o valnoj duljini: UV-A, UV-B i UV-C zračenje. UV-A zračenje ima valnu duljinu od 320 do 400 nm, UV-B zračenje od 280 do 320 nm te UV-C zračenje od 200 do 280 nm. UV-C je zračenje energetski najjače, ali ta vrsta zračenja nije zastupljena u sunčevoj svjetlosti koja prodire do Zemlje, jer ga ozonski sloj reflektira i djelomično apsorbira.

UV zračenje može oštetiti DNA izravno i neizravno (Slika 3). Izravna su oštećenja uzrokovana UV-C i kratkovalnim dijelom UV-B zračenja zato što zračenje te valne duljine izravno apsorbira molekula DNA. Jedno od mogućih oštećenja su oštećenja pojedinačnih baza. Najčešće je oštećenje pojedinačne baze stvaranje 5,6-hidroksicitozina adicijom vode na dvostruku vezu između petog i šestog atoma pirimidinskoga prstena. To se oštećenje nalazi u jednolančanim segmentima DNA. Drugo je oštećenje nastajanje pirimidinskih dimera ciklobutanskog tipa. To su najčešća oštećenja DNA uzrokovana UV zračenjem. Pirimidinski dimeri nastaju spajanjem dviju susjednih pirimidinskih baza na istom lancu DNA preko atoma 5 i 6. Nastajanje je pirimidinskih dimera reverzibilno te je ovisno o valnoj duljini UV zračenja. Pirimidinske dimere najučinkovitije stvara svjetlo valne duljine od 280 nm te kratkovalni dio UV-B. Pirimidinski dimeri uzrokuju mutagena, kancerogena i letalna oštećenja, jer zbog njih nastaju opsežne strukturne deformacije DNA.

Još jedno oštećenje uzrokovano UV-B zračenjem nastanak je (6-4) fotoprodukta. To oštećenje nastaje povezivanjem dva pirimidina na istom lancu DNA. Povezuje se šesti ugljikov atom 5' baze sa četvrtim ugljikovim atomom 3' baze. To je mutageno oštećenje jer dolazi do gubitka normalne genske upute.

Neizravno oštećenje DNA uzrokuje UV-A zračenje i dugovalni dio UV-B zračenja uglavnom endogenim tvarima koje povećavaju osjetljivost DNA te reaktivnim oblicima kisika. Neki endogeni stanični metaboliti, poput NADH, NADPH i riboflavina, mogu sudjelovati u procesu oštećivanja DNA kao posrednici. Reaktivni su oblici kisika, koji oštećuju DNA, slobodni radikali kisika, superoksidni anion te hidroksilni radikal. Oblici su neizravnog oštećenja DNA uzrokovanih UV zračenjem jednolančani lomovi DNA i unakrsno povezivanje DNA s proteinima. Male promjene u interakciji proteina i DNA

imaju značajan biološki utjecaj. (Black, 1997.)



SLIKA 3. Oštećenje DNA uzrokovano UV zračenjem (Rass i Reichrath, 2008.)

Postoje tri osnovna načina popravka DNA molekule. Rekombinacijski, ekscizijski i fotoreaktivacijski način popravka.

Rekombinacijski je popravak multienzimski proces koji se zbiva u repliciranim dijelovima oštećene DNA. Tim se postupkom vraća funkcionalnost, ali ne i prvobitna struktura. Rekombinacijski je popravak uglavnom odgovoran za djelomične sanacije oštećenja u obliku dvolančanih lomova i unakrsnog povezivanja DNA molekula.

Ekscizijski se popravak sastoji od izrezivanja oštećene DNA pri čemu u jednom lancu nastaje praznina, dok je integritet drugog lanca očuvan. Netaknuti drugi lanac omogućuje nadogradnju izrezanih baza u oštećenom lancu. Tim je postupkom moguće ukloniti pirimidinske dimere. (Chatterjee i Walker, 2017.)

Fotoreaktivacija je jednostavan oblik popravka DNA. Za taj postupak nije potrebna genska uputa u neoštećenom lancu DNA. Stanice sisavaca imaju fotoreaktivirajući enzim koji prepoznaje pirimidinske dimere u DNA i specifično se veže za njih. Nakon apsorpcije fotoreaktivirajućeg svjetla nastaje katalitičko cijepanje C-C veza u ciklobitanskom prstenu čime se pirimidinski dimer monomerizira. Fotoreaktivirajuće svjetlo ima valnu duljinu od oko 360 do 380 nm.

Uspješno je uklanjanje oštećenja DNA uzrokovano UV zračenjem najvažniji dio u zaštiti od pojave tumora. Uočeno je da su stanice bolesnika, koji boluju od bolesti poput Fanconijeve anemije te bolesti *Xeroderma pigmentosum*, u kojima nemaju enzime za popravak DNA, vrlo osjetljive na UV zračenje.

Analizom se kožnih nemelanomskih i melanomskih tumora pomoću PCR-a ustanovila prisutnost točkastih mutacija na svim trima članovima porodice *ras*-gena. Tumori nastali kao posljedica izlaganja kože suncu sadrže aktivirani onkogen *c-Ha-ras*. Većina se mutacija *ras*-gena pojavljuje u sekvencama bogatima pirimidinima.

Kožni tumori bolesnika, s bolesti *Xeroderma pigmentosum*, sadrže amplificirani gen *c-myc*, amplificirani gen *c-Ha-ras* te aktivirani onkogen *N-ras*. (Rass i Reichrath, 2008.).

## 2.4. STANIČNI CIKLUS

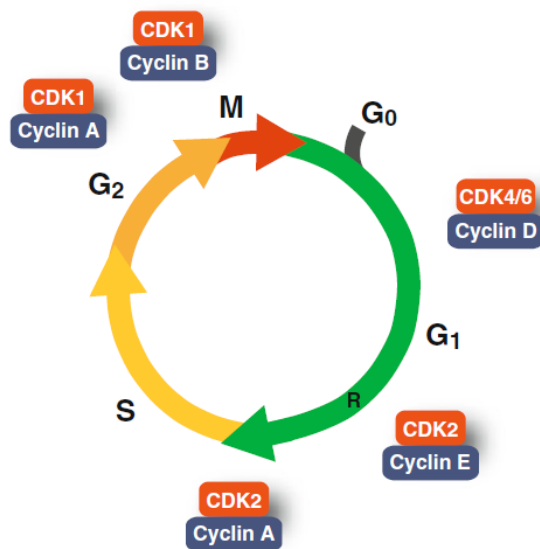
Dioba se većine stanica sastoji od četiri procesa, a to su: stanični rast, replikacija DNA, distribucija kromosoma u stanice kćeri i stanična dioba. Stanični je ciklus podijeljen u dva dijela, mitozu i interfazu. U mitozu dolazi do raspodjele nasljednih tvari u stanice-kćeri. Interfaza je period između mitozu u kojem stanica provodi najviše vremena. Tada se događa rast stanice i sinteza DNA.

Stanični se ciklus sastoji od četiri faze: faze M, G1, S i G2. M je faza staničnog ciklusa mitozu. G1 faza (gap 1) odgovara razdoblju između mitoze i inicijacije replikacije DNA. U G1 je fazi stanica metabolički aktivna i kontinuirano raste. U S se fazi događa replikacija DNA te nakon toga nastupa G2 faza (gap 2) u kojoj se sintetiziraju proteini odgovorni za mitozu.

Stanični se ciklus regulira i izvanstaničnim signalima iz okoline, ali i raznim unutarstaničnim signalima. U animalnim je stanicama stanični ciklus reguliran uglavnom izvanstaničnim faktorima rasta koji omogućuju stanicama da prođu kontrolnu točku i uđu u S fazu. Ako odgovarajući faktori rasta nisu dostupni u G1 fazi, stanica neće moći započeti replikaciju DNA u S fazi. Tada stanica ulazi u G0 fazu u kojoj je ona metabolički aktivna, ali bez mogućnosti rasta i sa smanjenom stopom sinteze proteina. (Cooper, 2018.)

Stanični ciklus viših eukariota kontroliraju ciklini i o njima ovisne protein kinaze, Cdk (od engl. cyclin-dependent kinases) (slika 4). Prelazak je iz G1 u S fazu reguliran pomoću Cdk2, Cdk4 i Cdk6 proteina i ciklina D i E. Kompleksi se Cdk2 sa ciklinima A aktiviraju u kasnoj S fazi i postojani su u G2 fazi. Mitozu iniciraju kompleksi Cdk1 sa ciklinima A i B. Aktivnost se Cdk/ciklin kompleksa kontrolira fosforilacijom te sintezom i degradacijom ciklina. Također postoje proteini koji ih inhibiraju i oni se zovu CKIs (od engl. Cdk inhibitors).

Najveći utjecaj na dijeljenje animalnih stanica imaju ekstracelularni faktori rasta. Jedna je od poveznica djelovanja vanjskih faktora i progresije u staničnom ciklusu sinteza ciklina tipa D. Taj se ciklin sintetizira sve dok je prisutan faktor rasta. Ciklin D brzo se degradira, što znači da će se njegova koncentracija brzo smanjiti u odsutnosti faktora rasta. Kompleks Cdk4,6/ciklin D omogućuje stanicama prolazak G1 faze. Gubitak regulacije ciklina D doprinosi gubitku regulacije staničnoga ciklusa što je jedna od karakteristika stanica tumora. Mutacije koje omogućuju gubitak regulacije sinteze ciklina D, kao i mutacije koje onemogućavaju djelovanje Cdk4 i Cdk6 inhibitora, nađene su u mnogim stanicama tumora.



SLIKA 4. Stanični ciklus i ciklin/cdk kompleksi (Poon, 2016.)

Cdk2/ciklin E kompleksi iniciraju S fazu aktivirajući sintezu DNA na ishodištima replikacije. Inicijacija replikacije mora biti strogo kontrolirana, jer svaki segment genoma mora se replicirati samo jednom u S fazi. (Barnum i O'Connell, 2014.)

U prisutnosti oštećenja DNA aktiviraju se proteini kinaze, ATR i ATM. Oni aktiviraju signalne puteve koji dovode do aktivacije popravka DNA, ili u nekim slučajevima, do programirane stanične smrti. ATR se aktivira u prisutnosti jednolančane DNA, dok se ATM aktivira u prisutnosti dvolančanih lomova. U prisutnosti tih oštećenja one fosforilacijom aktiviraju proteine Chk1 i Chk2 (od engl. checkpoint kinases). Fosforiliraju i inhibiraju Cdc25 protein fosfatazu koja je ključna u aktivaciji Cdk2 i Cdk1 proteina, što kao posljedicu ima zaustavljanje staničnog ciklusa u G1, S ili G2 fazi. Također, ATM i Chk2 fosforiliraju protein p53 i time ga stabiliziraju čime povećavaju njegovu koncentraciju. Protein p53 služi kao transkripcijski faktor te njegova povišena koncentracija inducira sintezu Cdk inhibitora i time onemogućava djelovanje Cdk2/ciklin E kompleksa. Mutirani se gen koji kodira za protein p53 često nalazi u stanicama raka. (Kastan i Bartek, 2004.)

#### **2.4.1. TUMOR SUPRESORSKI GENI**

Tumor supresorski geni su geni koji kontroliraju staničnu diobu i replikaciju. Bez njih bi stanica rasla nekontrolirano te bi kao posljedica toga došlo do nastanka tumora. Mutacije na tumor supresorskim genima dovode do gubitka funkcije ili smanjene aktivnosti proteina za koje kodiraju. U kombinaciji s drugim mutacijama, mutacije na tumor supresorskim genima, dovode do nenormalnog rasta stanice. (American Cancer Society, 2000.)

Tumor supresorske gene možemo grupirati u nekoliko kategorija (Tablica 1). Prva su kategorija takozvani „caretaker“ geni. Oni osiguravaju stabilnost genoma pomoću mehanizama za popravak DNA. Mutacije na takvim genima omogućuju nakupljanje mutacija. Primjeri su tih gena BRCA1 i BRCA2.

Druga su kategorija tumor supresorskih gena „gatekeeper“ geni. Ti geni izravno reguliraju stanični ciklus, inhibicijom staničnoga ciklusa ili indukcijom stanične smrti, odnosno apoptoze. Primjer je tog gena TP53 i ACP.

Treća su kategorija „landscaper“ geni. Oni izravno ne reguliraju stanični rast, ali kada su mutirani, pridonose razvitku tumora omogućujući okoliš koji pogoduje nereguliranoj staničnoj proliferaciji. Ti geni kodiraju za proteine koji kontroliraju staničnu mikrookolinu. Stanični rast ovisi i o interakciji između samih stanica, ali i o interakciji s izvanstaničnim matriksom. Produkti tih gena određuju sastav staničnih membrana. (Olivera, 2005.)

Tumor Suppressor Gene	Category	Function
Rb1	Gatekeeper	Inhibition of cell cycle
p53	Gatekeeper/Caretaker	DNA repair; cell cycle and apoptosis regulator
BRCA1	Caretaker	DNA repair
ATM	Caretaker	DNA repair
MLH1	Caretaker	Mismatch repair
CDKN1B	Gatekeeper	Inhibition of cell cycle
MSH2	Caretaker	Mismatch repair
APC	Gatekeeper	Transcription inhibition of $\beta$ -catenin
STK11 (LKB1)	Gatekeeper	Serine-threonine kinase signaling
CDH1	Gatekeeper	Cell adhesion

Tablica 1. Tumor supresorski geni i funkcija (www.cubocube.com)

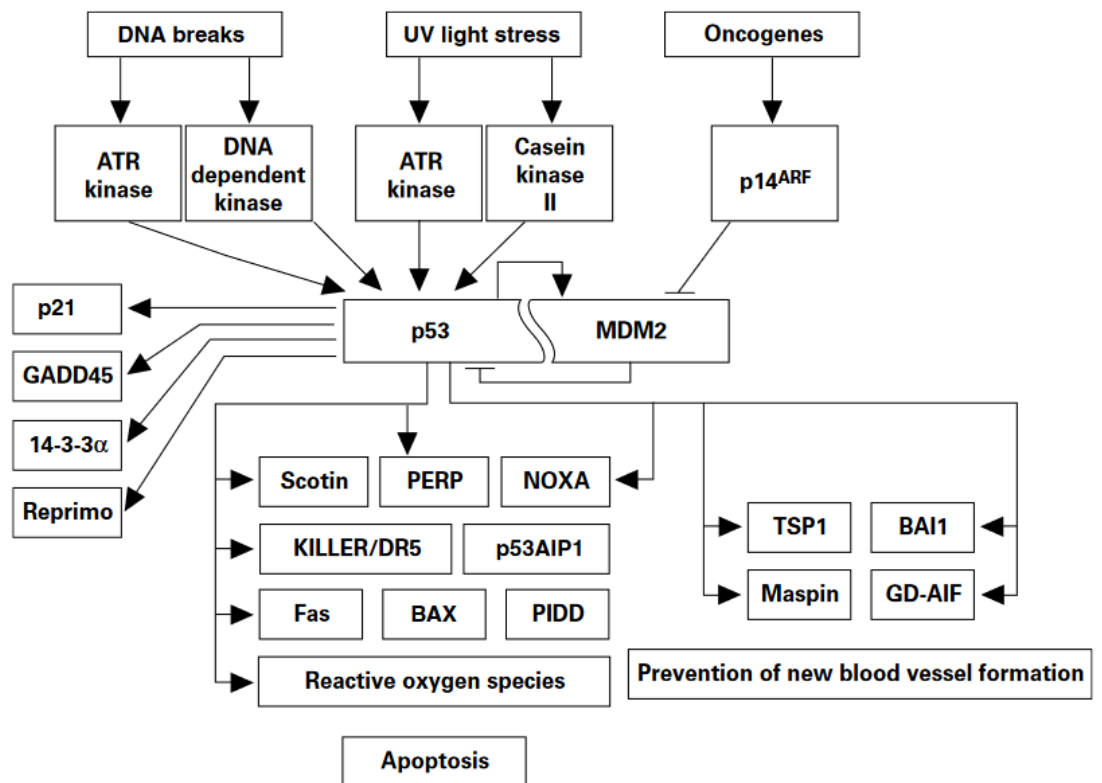
Nastanak je tumora posljedica mutacija na tumor supresorskim genima. Da bi se mutacija manifestirala fenotipski, oba alela u većini tumor supresorskih gena, moraju biti mutirana. To znači da se mutirani tumor supresorski geni ponašaju kao recesivni geni. A. G. Knudson ustanovio je tu hipotezu prateći slučajeve retinoblastoma. Ustanovio je da su potrebne dvije mutacije da bi došlo do nastanka retinoblastoma te da djeca koja naslijede mutirani RB1 gen imaju veće predispozicije za razvitak retinoblastoma. Gen TP53 ne prati Knudsonovu hipotezu. (Knudson, 1971.)

#### 2.4.1.1. TP53

Gen TP53 kodira za protein p53. To je jedan od najvažnijih tumor supresorskih gena. Taj je gen jedan od najčešće mutiranih gena koji se nalazi u stanicama tumora. Gen TP53 nalazi se na kromosomu 17. Gen je dugačak 20 kb i ima 7 domena. Mutacije koje inaktiviraju protein p53 uglavnom se nalaze u domeni koja omogućuje vezanje na molekulu DNA te se tako sprječava aktivacija tih gena. Uloge su proteina p53 višestruke (Slika 5). Taj protein aktivira proteine koji su odgovorni za popravak DNA. On može zaustaviti stanični ciklus u G1/S kontrolnoj točki, a može i inicirati apoptozu ukoliko se pokaže da je oštećenje DNA preveliko.

Protein se p53 aktivira kao posljedica staničnog stresa, što uključuje oštećenu DNA, hipoksiju ili aktivaciju onkogeni. U normalnim se uvjetima koncentracija p53 drži niskom pomoću E3 ubikvitin ligaze MDM2. Fosforilacijom se p53 aktivira tako da postaje nesenzitivan na MDM2 što dovodi do nakupljanja p53 u stanici. Protein je p53 transkripcijski aktivator više gena koji služe u popravku DNA, kontroli staničnog ciklusa,

a aktivacija gena ovisi o vrsti i stupnju oštećenosti DNA te o vrsti stanice. Nakon oštećenja DNA, p53 će aktivirati gene za zaustavljanje staničnog ciklusa te popravak DNA ili gene koji vode do apoptoze. Neki od gena koji p53 aktivira su: DDB2 koji kodira za DBA, damage-binding protein 2 te CDKN1A koji kodira za protein p21 koji zaustavlja stanični ciklus u G1/S kontrolnoj točki. Također aktivira gene PUMA i BAX koji sudjeluju u procesu apoptoze. Istraživanja su otkrila da p53 direktno i indirektno utječe na ekspresiju do 1500 gena ovisno o kontekstu aktivacije proteina p53. (Kanapathipillai, 2018.)



SLIKA 5.. Mreža djelovanja p53 proteina (Oliveria, 2005.)

### 2.4.1.2. RB

Rb gen je tumor supresorski gen koji kodira za protein pRB, prvi put identificiran u retinoblastomu. Pronađeno je da je Rb gen mutiran i inaktiviran u nekoliko vrsti tumora. Naslijeđeni inaktivirani oblik Rb gena višestruko pospješuje mogućnost razvitka tumora. Protein Rb odgovoran je za G1 kontrolnu točku, odnosno sprječava prijelaz iz G1 faze u S fazu. Interakcija je između porodice pRb proteina i porodice transkripcijskih faktora E2F ključna u upravljanju progresijom staničnoga ciklusa i replikacije DNA, poput TP53 i BRCA1, 2. To se postiže kontrolom ekspresije E2F ovisnih gena, a to su ciklini, regulatori kontrolnih točaka staničnoga ciklusa te proteini koji sudjeluju u popravku DNA. Protein pRB također ima jednu od glavnih uloga u diferencijaciji stanica. Porodica se Rb proteina sastoji od nekoliko proteina poput Rb/p105, Rb2/p130 i p107. Ti proteini imaju veliku regiju homologije, posebno u „pocket“ regiji. Ta je regija strukturno karakterizirana s dvije domene A i B odvojene sa spacerom S, koji se razlikuje između proteina. Transkripcijski faktori stupaju u interakcije s proteinima u A i B domeni. Osim tih transkripcijskih faktora, u interakciju s pRB proteinima stupaju i proteini koji sadrže LXCXE-motiv, poput E7 proteina HPV-a i ciklina D. Kompleksi ciklin/ciklin ovisne kinaze fosforilacijom upravljaju aktivnošću tog proteina. Fosforilacija omogućuje disocijaciju E2F faktora, odnosno inaktivaciju pRB proteina te to omogućuje da E2F transkripcijski faktori omoguće ekspresiju gena potrebnih za progresiju u S fazu. Gubitak funkcije pRb proteina dovodi do deregulacije staničnog ciklusa. Rb se proteini mogu inaktivirati fosforilacijom, mutacijama ili stupanjem u komplekse s viralnim onkoproteinima. Kao izravna posljedica toga, gubi se regulacija E2F transkripcijskih faktora što pridonosi gubitku kontrole nad određenim kontrolnim točkama staničnoga ciklusa. (Korenjak i Brehm, 2005.)

Gubitak je heterozigotnosti Rb gena pronađena u mnogim tumorima, što znači da se tumori razvijaju tek kada su oba alela mutirana (pRb -/-). (Murphree i Benedict, 1984.)

Prevelika ekspresija ciklina D1 i ovisnih kinaza dovodi do konstantne fosforilacije pRb proteina te gubitka regulacije nad E2F transkripcijskim faktorima. E7 se proteini HPV-a vežu za pRB proteine onemogućavajući stvaranje pRb/E2F kompleksa te tako dereguliraju stanični ciklus. (Giacinti i Giordano, 2006.)



### 2.4.2. ONKOGENI

Onkogeni su geni koji imaju potencijal izazvati tumore. U tumorskim su stanicama ti geni često mutirani te eksprimirani u visokim koncentracijama. Aktivirani onkogeni mogu pomoći stanicama da izbjegnu apoptozu te im tako omogućiti da prežive i krenu u daljnju diobu. Većina su onkogeni aktivirani protonkogeni. Protonkogeni su normalni geni koji su uključeni u kontrolu staničnog ciklusa. Aktivacija onkogeni obično se događa sa „gain of function“ mutacijom najčešće u regulatornoj regiji. Takve mutacije uzrokuju da produkti dobiju novu, nenormalnu funkciju te imaju povećanu razinu ekspresije i aktivnosti. (Croce,2008.)

Protoonkogen se može aktivirati i kromosomskom translokacijom. Translokacija se može dogoditi tako da se protoonkogen relocira na lokaciju s većom ekspresijom. Također, translokacijom se može dogoditi fuzija protoonkogeni i nekog drugog gena koji će kreirati hibridni protein, koji može imati izraženu onkogeni aktivnost. Primjer je takve mutacije Philadelphijska translokacija koja daje Philadelphijski kromosom. Ta se mutacija nalazi u stanicama oboljelih od kronične mijeloične leukemije. To je bolest u kojoj stanica u koštanoj srži postane kancerозна i proizvodi velik broj nenormalnih granulocita. Karakteristika je te mutacije translokacija genetskog materija između kromosoma 9 i kromosoma 22. Tada nastaje fuzionirani gen zvan BCR-ABL1 koji daje funkcionalni hibridni protein, stalno aktivan tirozin kinazni protein koji omogućuje nekontrolirano dijeljenje stanice. (Saattler, 2001.)

Onkogene dijelimo u nekoliko kategorija. Prva su kategorija onkogeni koji kodiraju za faktore rasta, druga za onkogene koji kodiraju za receptorske tirozin kinaze, treća za citoplazmatske tirozin kinaze, četvrta za citoplazmatske serin/treonin kinaze i njihove regulatorne podjedinice te geni koji kodiraju za GTPaze i transkripcijske faktore.

Kombinacija nekoliko onkogeni u suradnji s inaktiviranim tumor supresorskim genima će dovesti do razvitka tumora.

### 2.4.2.1. MYC

Onkogen MYC sudjeluje u nastanku mnogih ljudskih tumora. Protoonkogen MYC leži na raskrižju mnogih staničnih puteva koji potiču rast. Ekspresija je MYC-a regulirana pomoću brojnih mehanizama koji uključuju mnoge transkripcijske regulatorne motive u promotorskoj regiji. U tumorima je skoro otkriven v-myc onkogen čije je podrijetlo onkogeni retrovirus. Virus je preuzeo protoonkogenu verziju ili c-myc iz staničnog genoma. Otkriveno je da je MYC često translociran u raznim mijelomima te da je jedan od često amplificiranih onkogeni u raznim vrstama karcinoma. Sam po sebi MYC ne može izazvati nastanak tumora, već to čini u kombinaciji s drugim onkogenima i inaktiviranim tumor supresorskim genima. MYC mRNA stvara Myc polipeptide na dva mjesta. Prvo je mjesto uobičajen start kodon AUG, a drugo je mjesto CUG kodon koji se nalazi uzvodno od start kodona. Funkcija polipeptida koji nastaje od CUG kodona još nije znana. Protein koji se sintetizirao iz AUG mjesta, sadrži N-kraj, regulatornu domenu te C-kraj s domenom vezanja za DNA koja sadrži motiv HLH-Zip (od engl. Helix-loop-helix leucin zipper).

Transkripcija je MYC protoonkogena vrlo kontrolirana. Neki su od transkripcijskih faktora koji reguliraju CNBP, FBP i TCF. MYC se protein posttranslacijski modificira, a vrijeme mu poluživota iznosi 20 minuta. Mutirani proteini na aminokiselinama Thr-58 i Ser-62 stabiliziraju protein i omogućuju dugotrajnije djelovanje proteina. Ta je mutacija često nađena u Burkittovom limfomu.

Ubrzo je nakon otkrića MYC-a ustanovljeno da su ekspresija gena i razina proteina u korelaciji s brzinom staničnog ciklusa. Pretjerana ekspresija inducira progresiju staničnog ciklusa.

U ljudskom se genomu, c-myc nalazi na kromosomu 8 i smatra se da regulira ekspresiju do 15% svih gena kroz svoju E-box (od engl. Enhancer box). E-box je element DNA koji se nalazi u nekim eukariotima i služi kao mjesto za vezanje proteina. To je specifična sekvenca DNA, CANNTG, gdje N može biti bilo koji nukleotid. Proteini koji se vežu na E-box imaju veliku ulogu u regulaciji transkripcijske aktivnosti. Ti proteini obično sadrže motiv HLH. (Bretones, Delgado i Leon, 2015.)

#### 2.4.2.2. RAS

RAS su proteini GTPaze koje se često nalaze mutirane u stanicama tumora. Supresija je apoptoze od strane RAS proteina posljedica narušenog odnosa između signala za apoptozu i signala protiv apoptoze.

Tri RAS gena kodiraju za četiri distinktna proteina koji pokazuju visoki stupanj homologije. RAS proteini su: HRAS, NRAS, KRAS4A i KRAS4B. RAS su proteini aktivni ako su u interakciji s GTP-om, a inaktivni ako su u interakciji s GDP-om. Prijelaz je između ta dva stanja reguliran GEF-om (od engl. Guanine nucleotide exchange factor) koji aktivira RAS proteine stimulirajući izmjenu GDP-a s GTP-om te je reguliran i s GAP-om (od engl. GTPase-activating proteins) koji promoviraju hidrolizu GTP-a u GDP. Većina somatskih mutacija koje su pronađene u onkogenim varijantama RAS gena ciljaju inaktivaciju RAS proteina pomoću GAP-a. Ta mutacija uzrokuje promjenu proteina te onemogućava povoljne uvjete hidrolitičkog cijepanja fosfata i sprječava stvaranje sila koje omogućuju vezanje GAP-a na protein.

Stalno aktivni RAS omogućuje stanici proliferaciju. Prevelika je ekspresija proteina HRAS dovoljna da bez ostalih faktora rasta omogući stanici koja se nalazi u G0 fazi ulazak u stanični ciklus. Aktivni RAS proteini uzrokuju deregulaciju u transkripciji faktora rasta poput HBEGF (od engl. Herapin – binding epidermal growth factor), TGF $\alpha$  (od engl. Transforming growth factor  $\alpha$ ) te AREG (od engl. Amphiregulin). Također, aktivirani RAS proteini utječu i na regulaciju ekspresije receptora faktora rasta. Utjecaj na sve te signale koji potiču proliferaciju stanice kulminira aktivacijom nekoliko različitih transkripcijskih faktora koji pokreću ekspresiju ciklina potrebnih za prolaz kroz G1 fazu staničnog ciklusa, poput ciklina D1. Aktivirani HRAS protein uz poticanje transkripcije ciklina D1 utječe na njegovu metaboličku stabilnost tako da inhibira djelovanje proteina GSK3 $\beta$  (od engl. Glycogen synthase kinase 3 $\beta$ ), koja je odgovorna za fosforilaciju i posljedičnu ubikvitaciju te degradaciju ciklina D1. Onkogeni se aktivnost RAS proteina dakle bazira na njegovom utjecaju na ciklin D1. Pokazano je da u miševima s deficijencijom ciklina D1 ne dolazi do razvitka tumora povezanih s onkogenim djelovanjem HRAS proteina. Kako RAS proteini daju stalni signal za staničnu proliferaciju, dolazi do replikativnog stresa, koji se očituje u povećanom broju aktivnih ishodišta replikacije te u promjenama u replikacijskoj viljuški. To sve dovodi do oštećenja DNA i aktivacije staničnog odgovora na oštećenje DNA. U stanicama koje posjeduju potpuno funkcionalne kontrolne točke dolazi do zaustavljanja staničnog

ciklusa koji se zove OIS (od engl. Oncogene-induced senescence). Iako zaustavljanje staničnog ciklusa sprječava diobu stanice, ono također vrši selektivni pritisak koji favorizira diobu stanica u kojem su izgubljeni neki elementi tumor supresorske aktivnosti, poput stanica u kojima je mutiran p53. HRAS omogućava stanicama da brže prođu kroz G2/M kontrolnu točku, inhibira aktivaciju provjere oštećenja DNA u G2 točki te inducira defekte u kontrolnoj točki diobenog vretena. To sve uzrokuje genetsku nestabilnost.

RAS proteini djeluju i kao supresori apoptoze. Oni aktiviraju stanične puteve PI3K i RAF. Aktivacija PI3K puta uzrokuje deregulaciju pro-apoptotičkog proteina BAK1 (od engl. BCL-2-homologous antagonist/killer 1), dok RAF deregulira PAR4 (od engl. Prostate apoptosis response 4).

RAS proteini utječu na staničnu mikrookolinu i metabolizam. Kompleksnim putevima potiču stvaranje novih krvnih žila te ubrzavaju metabolizam potreban za stvaranje preteča. Stanice s mutiranim RAS proteinima uspješno izbjegavaju stanični imunski odgovor na način da smanjuju ekspresiju MHC-a (od engl. Major histocompatibility complex) na transformiranim stanicama. MHC su proteini na staničnoj membrani koji pomažu imunskom sustavu prepoznavanje strane tvari. Smanjena ekspresija MHC-a opisana je u 40 – 90% tumora. (Pylayeva-Gupta, 2011.)

### **3. ZAKLJUČAK**

Nastanak je karcinoma kompleksan proces u kojem sudjeluju razni stanični mehanizmi i stanične komponente. Daljnjim istraživanjima procesa i uzroka karcinogeneze te signalnih puteva u stanici, možemo potencijalno otkriti načine sprječavanja nastajanja karcinoma, odnosno razvijanje metoda liječenja koje su specifične za određenu vrstu karcinoma. Jedna od tih metoda mogla bi biti genska terapija.

#### 4. POPIS LITERATURE

1. American Cancer Society (2000). *Oncogenes and tumor suppressor genes*. [online] Cancer.org. Available at: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/genetics/genes-and-cancer/oncogenes-tumor-suppressor-genes.html>.
2. Araldi, R.P., Sant'Ana, T.A., Módolo, D.G., de Melo, T.C., Spadacci-Morena, D.D., de Cassia Stocco, R., Cerutti, J.M. and de Souza, E.B. (2018). The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, pp.1537–1556.
3. Barnum, K.J. and O'Connell, M.J. (2014). Cell Cycle Regulation by Checkpoints. *Methods in Molecular Biology*, pp.29–40.
4. Black, H.S. (1997). Photocarcinogenesis: an overview. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, [online] 40(1), pp.29–47. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134497000213?via%3Dihub> [Accessed 11 Apr. 2021].
5. Boranović, M. (2000). *Karcinogeneza - suvremena gledišta o podrijetlu malignih tumora*. Zagreb: Medicinska naklada.
6. Bretones, G., Delgado, M.D. and León, J. (2015). Myc and cell cycle control. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, [online] 1849(5), pp.506–516. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187493991400073X>.
7. Chatterjee, N. and Walker, G.C. (2017). Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environmental and molecular mutagenesis*, [online] 58(5), pp.235–263. Available at: .
8. Cooper, G. (2018). *CELL : a molecular approach*. S.L.: Sinauer Associates.
9. Cooper, G.M. (1992). *Elements of Human Cancer*. Jones & Bartlett Pub, pp.16–19.
10. Cooper, G.M. (2017). *Oncogenes*. [online] Nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9840/>.
11. Cornel, A.M., Mimpfen, I.L. and Nierkens, S. (2020). MHC Class I Downregulation in Cancer: Underlying Mechanisms and Potential Targets for Cancer Immunotherapy. *Cancers*, 12(7), p.1760.
12. Croce, C.M. (2008). Oncogenes and Cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(5), pp.502–511.
13. Damjanov, I., Seiwert, S., Jukić, S. and Nola, M. (n.d.). *Patologija*. 4th ed. Medicinska naklada, pp.134–137.

14. Erceg, M. and Miler Knežević, A. (2020). Izvješće o smrtnosti prema listi odabranih uzroka smrti 2019. *Hrvatski zavod za javno zdravstvo, služba za epidemiologiju i prevenciju kroničnih nezaraznih bolesti*.
15. Giacinti, C. and Giordano, A. (2006). RB and cell cycle progression. *Oncogene*, 25(38), pp.5220–5227.
16. Gonzalez, F.J. and Gelboin, H.V. (1992). Human cytochromes P450: evolution and cDNA-directed expression. *Environmental Health Perspectives*, [online] 98, pp.81–85. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1519618/?page=1>.
17. Guengerich, F.P. (2008). Cytochrome p450 and chemical toxicology. *Chemical research in toxicology*, [online] 21(1), pp.70–83. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18052394>
18. Hanahan, D. and Weinberg, Robert A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, [online] 144(5), pp.646–674. Available at: [https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(11\)00127-9](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(11)00127-9).
19. Kanapathipillai, M. (2018). Treating p53 Mutant Aggregation-Associated Cancer. *Cancers*, 10(6), p.154.
20. Kastan, M.B. and Bartek, J. (2004). Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 432(7015), pp.316–323.
21. Knudson, A.G. (1971). Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(4), pp.820–823.
22. Knudson, A.G. (2002). Cancer genetics. *American Journal of Medical Genetics*, 111(1), pp.96–102.
23. Korenjak, M. and Brehm, A. (2005). E2F-Rb complexes regulating transcription of genes important for differentiation and development. *Current Opinion in Genetics & Development*, [online] 15(5), pp.520–527. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16081278/> [Accessed 24 May 2021].
24. Kumar, R., Srivastava, R. and Srivastava, S. (2015). Detection and Classification of Cancer from Microscopic Biopsy Images Using Clinically Significant and Biologically Interpretable Features. *Journal of Medical Engineering*, 2015, pp.1–14.
25. Mesri, Enrique A., Feitelson, M.A. and Munger, K. (2014). Human Viral Oncogenesis: A Cancer Hallmarks Analysis. *Cell Host & Microbe*, [online] 15(3), pp.266–282.
26. Murphree, A. and Benedict, W. (1984). Retinoblastoma: clues to human oncogenesis. *Science*, [online] 223(4640), pp.1028–1033. Available at: <https://mdanderson.elsevierpure.com/en/publications/retinoblastoma-clues-to-human-oncogenesis>.

27. Nambiar, M., Kari, V. and Raghavan, S.C. (2008). Chromosomal translocations in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1786(2), pp.139–152.
28. Oliveira, A.M., Ross, J.S. and Fletcher, J.A. (2005). Tumor Suppressor Genes in Breast Cancer The Gatekeepers and the Caretakers. *Pathology Patterns Reviews*
29. Pećina-Šlaus, N., Bulić-Jakuš, F. and Radić, K. (2005). Tumor supresorski geni. *Medicinar*, 46, pp.44–47.
30. Pecorino, L. (2016). *Molecular biology of cancer : mechanisms, targets, and therapeutics*. Oxford: Oxford University Press, pp.5–15.
31. Poon, R.Y.C. (2016). Cell Cycle Control: A System of Interlinking Oscillators. *Methods in Molecular Biology*, pp.3–19.
32. Pylayeva-Gupta, Y., Grabocka, E. and Bar-Sagi, D. (2011). RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nature Reviews Cancer*, 11(11), pp.761–774.
33. Rass, K. and Reichrath, J. (2008). UV damage and DNA repair in malignant melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, [online] 624, pp.162–178.
34. Sattler, M. and Griffin, J.D. (2001). Mechanisms of Transformation by the BCR/ABL Oncogene. *International Journal of Hematology*, 73(3), pp.278–291.
35. Schlatter, J. and Lutz, W.K. (1990). The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): Risk assessment at human dietary exposure levels. *Food and Chemical Toxicology*, 28(3), pp.205–211.
36. Tomasetti, C., Li, L. and Vogelstein, B. (2017). Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science*, [online] 355(6331), pp.1330–1334.
37. Torry, D. and Cooper, G. (1991). *AMERICAN JOURNAL OF REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY Proto-Oncogenes in Development and Cancer*.
38. TORRY, D.S. and COOPER, G.M. (1991). Proto-Oncogenes in Development and Cancer. *American Journal of Reproductive Immunology*, 25(3), pp.129–132.
39. Tricker, A.R. and Preussmann, R. (1991). Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 259(3-4), pp.277–289.
40. www.cubocube.com. (n.d.). *Cancer Genetics - CuboCube*. [online] Available at: <http://www.cubocube.com/dashboard.php?a=347&b=428&c=1>.



41. www.hzjz.hr. (n.d.). *Cijepljenje protiv humanog papiloma virusa (HPV)*. [online]  
Available at: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/cijepljenje-protiv-humanog-papiloma-virusa-hpv-2018-2019/> [Accessed 24 Aug. 2021].

## Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Handwritten signature in blue ink, appearing to read "Matijević".

---

ime i prezime studenta